

ПРОВ 2010

ПРОВ 98

ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ им. А.О.КОВАЛЕВСКОГО
АН УССР

~7848-В85

11.11.85

УДК 582.263/.275.36:577.1(262.5)

О.Г.МИРОНОВ, И.М.ЦЫМБАЛ, Ю.П.КОПЫТОВ

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЧЕРНОМОРСКОЙ ФИЛЛОФОРЫ

СЕВАСТОПОЛЬ 1985

Институт биологии
южных морей АН УССР

БИБЛИОТЕКА

№ 45 деп.

Черноморская филлофора занимает значительные водные пространства, является промысловой водорослью и находит широкое применение в народном хозяйстве. Интенсивное использование непосредственно прибрежной части внутренних морей приводит к изменению запасов, ареалов, а иногда биологии и биохимических показателей водных растений.

Биология филлофоры подробно изучена Калугиной-Гутник [2], которая указывает на неравномерное образование и рост сегментов этой многолетней водоросли, отмечая два максимума нарастания биомассы. В связи с этим представляет интерес определения наиболее существенных биохимических параметров как в период покоя, так и в период интенсивного роста.

Талломы *Phyllophora pectinata* собирали в декабре и январе тра-лом Сиксби в районе Филлофорного поля Зернова с глубины 20-25 м. На шести станциях из десяти, где отбирали пробы, обнаружены растения с сегментами необычного для филлофоры зеленого цвета. В зимний период, наряду с зелеными сегментами, найдены сегменты оранжевого цвета. Сегменты необычной для филлофоры окраски визуально составляли от 5 до 30% и по длине всего слоевища чередовались с участками темно-красного цвета, характерного для этой водоросли. По консистенции сегменты другой окраски не отличались от нормально окрашенных частей слоевища.

Собранные на каждой станции водоросли, объединяли в средние пробы: обычно окрашенных сегментов, ювенильных, (прирост этого года), зеленых сегментов, оранжевых сегментов. Пробы четырех разновидностей сегментов филлофоры фиксировали

и измельчали в жидком азоте. Из каждой такой средней пробы брали четыре навески в пределах 70-90 мг, три из них использовали для анализа, а четвертую высушивали при 105°C и пересчитывали рабочие навески на сухую ткань. В отобранных пробах определяли свободные нуклеотиды и нуклеиновые кислоты по методу [5], белок - по методу Лоури [4]. Экстракцию углеводов проводили последовательно 5% HClO_4 (кислоторастворимые углеводы), щелочным гидролизом KOH (щелочерастворимые углеводы), кислотным гидролизом 70% H_2SO_4 (трудногидролизуемые углеводы). Полисахариды осаждали из щелочного гидролизата двумя объемами этанола. Все фракции углеводов количественно определяли по цветной реакции с триптофаном [1]. Общее содержание липидов определяли весовым методом и по цветной реакции с фосфованилиновым реактивом [6]. Качественный состав липидов определяли модифицированным методом тонкослойной хроматографии [3] с последующей денситометрией.

Известна высокая пластичность и эврибионтность черноморской филлофоры, что обуславливает широкую изменчивость не только морфологических признаков, но и биохимических показателей [2]. Основным компонентом слоевищ филлофоры являются углеводы. Они составляют 35-40% сухой ткани (табл. I) и являются наиболее лабильным биохимическим показателем от места взятия пробы. Сумма углеводов в пределах обычно окрашенных сегментов изменяется от 36 до 51%. Такая же вариабильность характерна для кислото-и-щелочерастворимых углеводов. Наиболее стабильной фракцией оказались трудногидролизуемые углеводы, где ошибка средней составляет 0,16. На долю кисло-

торастворимых углеводов в обычных для филофоры сегментах приходится половина суммы всех углеводов. Концентрация остальных фракций в зимних пробах примерно одинакова. В летнее время содержание кислоторастворимых углеводов увеличивается, а полисахаридов и трудногидролизуемых углеводов уменьшается ($p < 0,05$). Общее содержание углеводов в зеленых сегментах в декабре и июне ниже, чем в сегментах обычной окраски. Эти различия отчетливее прослеживаются в летний период ($p < 0,01$) и обеспечиваются в июне за счет щелочерастворимых и кислоторастворимых углеводов ($p < 0,01$), а в декабре за счет щелочерастворимых углеводов и полисахаридов ($p < 0,05$). В содержании трудногидролизуемых углеводов достоверных различий в зависимости от сезона не найдено. В сегментах филофоры окрашенных в оранжевый цвет количество углеводов примерно такое же, как и в зеленых частях талломов. Наибольшая разница наблюдается в концентрации щелочерастворимой фракции и полисахаридах. Последние достигают критических значений и составляют около 5% от содержания полисахаридов в зеленых сегментах и около 3% от содержания их в сегментах обычной окраски.

Содержание белка в талломах филофоры колеблется в зависимости от сезона от 15% летом до 30% зимой (табл. 2). Количество белка в зимних и летних пробах зеленых сегментов разнится незначительно, однако, содержание его в зимний период не достигает летних значений в сегментах обычной окраски ($p < 0,05$). Количество белка в оранжевых участках талломов меньше, чем в обычных и зеленых сегментах и составляет соот-

ветственно от них 67 и 82%.

Биохимические показатели нуклеиновой природы также изменяются по сезонам и в зависимости от окраски сегментов водорослей, в том числе и филлофоры. Содержание отдельных веществ, как правило, не превышает 1%. Свободные нуклеотиды в декабре и июне в обычных сегментах составляют 0,32 - 0,36%, где достоверных различий не найдено. В зеленых сегментах концентрация свободных нуклеотидов ниже, чем в обычно окрашенных сегментах ($p < 0,01$). Содержание ДНК в сегментах обычной окраски в декабре находится на том же уровне, что и в сегментах иной окраски. В июне содержания её в нормально окрашенных сегментах увеличивается почти в три раза. В зеленых участках талломов содержание ДНК в летний период не достигает концентрации ДНК нормально окрашенных частей филлофоры ($p < 0,01$), что может свидетельствовать о замедлении синтеза нуклеиновых кислот. Содержание РНК как обычных, так и зеленых сегментов в различное время года достоверно не отличается. Концентрация свободных нуклеотидов и РНК в оранжевых частях слоевища в декабре значительно ниже не только по сравнению с обычными сегментами ($p < 0,01$), но и по сравнению с зелеными участками талломов ($p < 0,05$).

Общее содержание липидов в талломах филлофоры как в летний, так и в зимний периоды, варьирует в зависимости от места взятия пробы от 1 до 5% сухой массы. Качественный состав их практически не изменяется. Исключение представляет неидентифицированная фракция, характерная для водорослей в

июне месяце, которая при хроматографии выходит сразу после триглицеридов.

На рис. 2 приведено соотношение основных фракций липидов, выделенных из сегментов филлофоры различной окраски. В летний период основную часть липидов составляют жирные кислоты, полярные липиды и фитостерины. Содержание триглицеридов невелико и колеблется от 3,4 до 6,9% всех липидов в зависимости от окраски сегментов. Липиды, выделенные из растений, отобранных зимой, характеризуются повышенной концентрацией триглицеридов и снижением доли жирных кислот и фитостеринов. Однако, соотношение отдельных фракций липидов в сегментах различной окраски отличаются от соотношения их в обычноокрашенных частях растений. Так, если в сегментах нормальной окраски содержание полярных липидов, фитостеринов, триглицеридов от лета к зиме достоверно не изменяется, то в ювенильных сегментах, где идет интенсивное нарастание новых клеток, концентрация полярных липидов, фитостеринов и жирных кислот значительно выше летом ($p < 0,05$), чем в зимний период. Аналогичные изменения характерны и для зеленых частей филлофоры. Содержание триглицеридов в ювенильных и зеленых сегментах водорослей значительно выше зимой, чем летом ($p < 0,01$) и достигает 75% всех липидов.

Углеводороды, экстрагируемые вместе с липидами, составляют 8-10% липидов филлофоры. При этом в молодых сегментах их значительно меньше, чем в остальных частях растений. Однако, на трех из 16 станций содержание углеводородов достигало 50% от экстрагированных липидов. Известно, что в состав водорослей

входят углеводороды. Обычно это углеводороды биогенного происхождения и представлены алканами нормального строения с преобладанием гепта-и пентадеканов. В пяти летних пробах на трех станциях в составе углеводородной фракции найдены ароматические соединения. Общее содержание углеводородов в указанных пробах, включая ароматические, несколько выше, чем в пробах, где она не обнаружена. В литературе имеются сведения о том, что растения способны синтезировать ароматические соединения. Предыдущими нашими исследованиями показано, что растения способны накапливать углеводороды антропогенного и, в частности, нефтяного происхождения. Можно полагать, что ароматика в составе углеводородов черноморской филофоры носит привнесенный характер, так как на остальных семи станциях она не была обнаружена.

Нехарактерно окрашенные сегменты филофоры отличаются от нормальных частей слоевища по многим химическим показателям. В частности, они отличаются по содержанию ДНК, отдельным фракциям углеводов, белку. Оранжевые сегменты, судя по химическим параметрам являются, по-видимому, дальнейшей ступенью изменения зеленых сегментов.

Таблица I

Содержание углеводов в черноморской филлофоре в процентах от сухой ткани.

Сегменты	!Кислоторастворимые		!Щелочерастворимые		!Полисахариды		!Трудногидролизуемые	
	зима	лето	зима	лето	зима	лето	зима	лето
	22,78 $\pm$ 0,77	30,51 $\pm$ 0,59	6,74 $\pm$ 0,14	6,73 $\pm$ 0,28	6,03 $\pm$ 0,1	2,91 $\pm$ 0,003	6,44 $\pm$ 0,35	2,27 $\pm$ 0,11
Обычные сегменты	17,25 $\pm$ 0,55	27,44 $\pm$ 0,35	11,38 $\pm$ 0,95	11,81 $\pm$ 0,76	5,28 $\pm$ 0,23	5,20 $\pm$ 0,008	5,54 $\pm$ 0,14	2,66 $\pm$ 0,12
	17,30 $\pm$ 0,45	26,77 $\pm$ 0,62	8,4 $\pm$ 0,60	5,82 $\pm$ 0,18	13,70 $\pm$ 0,91	2,66 $\pm$ 0,30	6,8 $\pm$ 0,06	2,22 $\pm$ 0,06
	17,77 $\pm$ 0,22	26,12 $\pm$ 0,63	6,11 $\pm$ 0,41	6,21 $\pm$ 0,28	6,40 $\pm$ 0,16	3,39 $\pm$ 0,37	5,67 $\pm$ 0,09	2,85 $\pm$ 0,08
среднее	18,77 $\pm$ 1,34	27,71 $\pm$ 0,97	8,16 $\pm$ 1,17	7,64 $\pm$ 1,40	7,85 $\pm$ 1,96	3,54 $\pm$ 0,57	6,11 $\pm$ 0,30	2,50 $\pm$ 0,16
	18,03 $\pm$ 0,34	16,55 $\pm$ 0,17	6,12 $\pm$ 0,05	2,42 $\pm$ 0,05	5,85 $\pm$ 0,47	2,96 $\pm$ 0,06	5,29 $\pm$ 0,21	1,79 $\pm$ 0,12
Зеленые сегменты	16,84 $\pm$ 0,45	17,47 $\pm$ 0,26	4,67 $\pm$ 0,26	2,80 $\pm$ 0,10	3,01 $\pm$ 0,34	2,29 $\pm$ 0,16	6,53 $\pm$ 0,19	1,67 $\pm$ 0,14
	16,48 $\pm$ 0,63	15,66 $\pm$ 0,24	4,18 $\pm$ 0,06	3,78 $\pm$ 0,28	3,29 $\pm$ 0,08	3,20 $\pm$ 0,28	4,91 $\pm$ 0,29	3,12 $\pm$ 0,09
среднее	17,05 $\pm$ 0,49	16,56 $\pm$ 0,52	4,99 $\pm$ 0,58	3,0 $\pm$ 0,40	4,05 $\pm$ 0,9	2,81 $\pm$ 0,27	5,58 $\pm$ 0,49	2,19 $\pm$ 0,46
	20 $\pm$ 0,25		2,62 $\pm$ 0,05		0,25 $\pm$ 0,06		7,5 $\pm$ 0,41	
Оранжевые сегменты	17,05 $\pm$ 0,82		2,96 $\pm$ 0,32		0,17 $\pm$ 0,06		5,57 $\pm$ 0,66	
	18,47 $\pm$ 0,54		2,78 $\pm$ 0,30		0,28 $\pm$ 0,03		6,45 $\pm$ 0,42	
среднее	18,51 $\pm$ 1,47		2,79 $\pm$ 0,17		0,23 $\pm$ 0,06		6,51 $\pm$ 0,9	

Таблица 2

Содержание свободных нуклеотидов, нуклеиновых кислот, белка в сегментах различной окраски черноморской филофоры в процентах от сухой ткани.

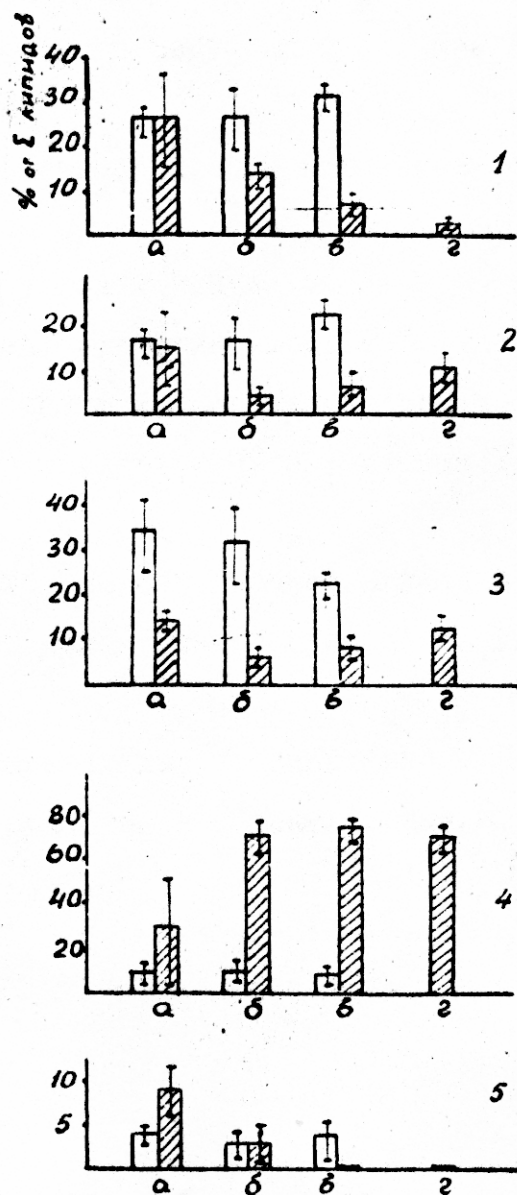
Сегменты	Св. нуклеотиды		РНК		ДНК		белок	
	зима	лето	зима	лето	зима	лето	зима	лето
	0,35±0,08	0,31±0,01	1,05±0,03	1,38±0,05	0,07±0,001	0,21±0,007	30,73±0,81	15,99±0,62
Обычные	0,43±0,02	0,33±0,003	0,72±0,01	1,13±0,01	0,07±0,001	0,18±0,001	28,93±2,2	14,50±0,77
сегменты	0,39±0,01	0,32±0,01	0,99±0,01	0,90±0,001	0,06±0,001	0,20±0,03	30,82±0,73	13,91±0,47
	0,26±0,07	0,33±0,03	0,88±0,03	1,07±0,05	0,09±0,005	0,20±0,007	26,39±2,09	15,51±0,94
среднее	0,36±0,04	0,32±0,005	0,91±0,007	1,12±0,09	0,07±0,006	0,20±0,006	29,21±1,09	14,97±0,47
	0,22±0,01	0,19±0,002	0,70±0,01	1,01±0,04	0,07±0,007	0,10±0,01	24,49±1,41	18,39±0,06
	0,20±0,01	0,25±0,05	0,77±0,03	1,03±0,07	0,09±0,004	0,12±0,02	23,81±1,18	20,66±0,08
	0,20±0,009	0,20±0,007	0,71±0,02	0,62±0,006	0,08±0,003	0,13±0,001	20,79±0,19	20,66±0,08
среднее	0,21±0,007	0,22±0,02	0,73±0,02	0,89±0,13	0,08±0,006	0,12±0,009	23,03±1,96	19,90±0,76
	0,14±0,006		0,57±0,03		0,05±0,004		20,29±1,30	
оранже-	0,12±0,006		0,57±0,01		0,06±0,004		19,09±0,55	
вые								
сегменты	0,12±0,002		0,59±0,01		0,06±0,002		19,38±0,47	
среднее	0,13±0,1		0,58±0,01		0,06±0,005		19,58±0,6	

Институт биологии
Южных морей ДН УССР

Библиотека

№ 45 деп.

Содержание отдельных фракций липидов в черноморской филлофоре



а-обычные сегменты, б-зимние сегменты, в-зеленые сегменты; 1-полярные липиды, 2-фитостеролы, 3-жирные кислоты, 4-триглицериды, 5-эфиры стеролов и воска.

Литература

1. Агатова А. И., Полуяктов В. Ф. Определение суммы углеводов в морской воде, взвеси и осадках с триптофаном. - В кн.: Методы исследования органического вещества в океане. М.: Наука, 1980, с. 115-121.
2. Калугина А. А. Фитобентос Черного моря. Киев.: Наукова Думка, 1975, 245 с.
3. Копытов Ю. П. Новый вариант тонкослойной хроматографии липидов и углеводов. Экология моря, 1983, вып. 13, с. 76-80.
4. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев.: Наукова Думка, 1975, 246 с.
5. Нечаева Е. П. К методике определения нуклеиновых кислот в молодых зеленых растениях. Физиология растений. 1966, 13, №5, с. 919-921.
6. Рекомендации по определению биохимического состава различного органического вещества в морских водах. М.: ВНИРО, 1963, 35 с.

Институт биологии южных
морей АН СССР
г. Севастополь

- 12 -

печатается в соответствии с решением
Ученого Совета Института биологии
морей им. А. О. Ковалевского АН УССР
Пр. № 17 от 24 сентября 1985 г.

В печать от 29.10.85

Тир. 1

Цена 1-20

Зак. 32792

Производственно-издательский комбинат ВИНТИ
Люберцы, Октябрьский пр., 403
